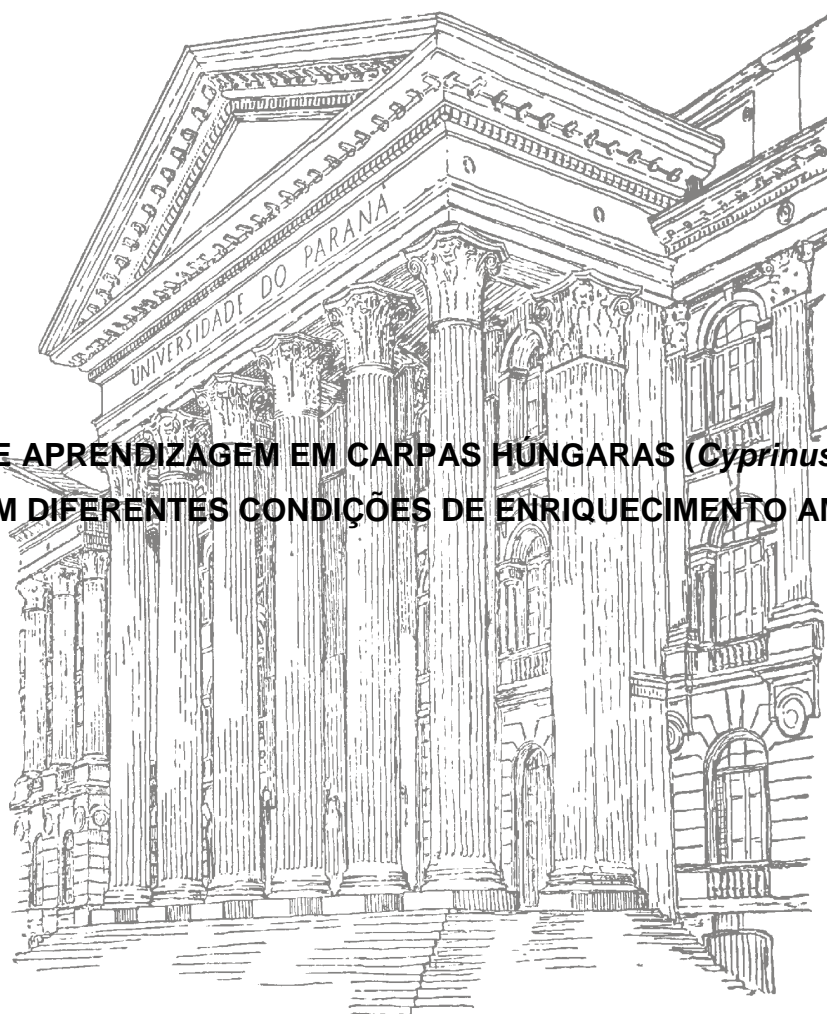


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ELISA ROSSETTI DE SÁ

**MEMÓRIA E APRENDIZAGEM EM CARPAS HÚNGARAS (*Cyprinus carpio*)
MANTIDAS EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL**



CURITIBA

2009

ELISA ROSSETTI DE SÁ

**MEMÓRIA E APRENDIZAGEM EM CARPAS HÚNGARAS (*Cyprinus carpio*)
MANTIDAS EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL**

Monografia apresentada à disciplina de Estágio em Fisiologia (BF039), como pré-requisito para conclusão do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a Dr^a Marisa Fernandes de Castilho

CURITIBA

2009

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos aos meus pais Helenice Rossetti de Sá e José Euclides de Sá pelo lar bem construído, pelo exemplo de vida, pelos ensinamentos e conselhos, por sempre estarem presentes, por hoje eu saber o significado da palavra FAMÍLIA, e por tudo o que significam para mim. Esta monografia é dedicada a vocês como forma de dizer MUITO OBRIGADA!

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Marisa Fernandes de Castilho pelo conhecimento passado, pela assistência fornecida, pela paciência e atenção, e por ter sido companheira na orientação desta monografia.

Ao Prof. Dr. Gilson Volpato, pelo grande auxílio proporcionado, pelo cuidado e pela simpatia.

Aos amigos que mesmo de longe e desde muito antes da graduação, estiveram comigo me proporcionando momentos de alegria e um verdadeiro sentimento de afeição, e também àqueles que me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho (em especial ao meu pai por ter dado forma aos aparatos projetados, e ao Paulo por todas as idas e vindas entre piscicultura e laboratório, aos domingos!!!).

RESUMO

Enriquecimento ambiental é uma técnica utilizada para promover um aumento nos níveis de bem-estar de animais mantidos em cativeiro. Alguns estudos têm demonstrado os efeitos dessa técnica sobre a aquisição de habilidades cognitivas em diversas espécies. Para verificar se carpas húngaras (*Cyprinus carpio*) mantidas em diferentes condições de enriquecimento ambiental desenvolvem diferenças na capacidade de aprendizagem, três testes foram realizados: dois avaliando a aquisição de memória espacial, e um avaliando a aquisição de memória temporal. Os resultados sugerem que a obtenção de memória espacial depende do tipo de aparato apresentado, associado à condição do aquário (com ou sem enriquecimento); o teste de time-place learning não apresentou resultados satisfatórios para avaliação dos efeitos do enriquecimento ambiental sobre a aquisição de memória temporal.

Palavras-chave: Enriquecimento ambiental; Aprendizagem; Peixe *Cyprinus carpio*

LISTA DE FIGURAS

1. APARATO DO TESTE DO LABIRINTO (ADAPTADO DE ODLING-SMEE & BRAITHWAITE, 2003a). COMPARTIMENTO 1 – LOCAL ONDE O PEIXE ERA POSICIONADO PARA O INÍCIO DO TESTE; COMPARTIMENTO 2 – ONDE ERA OFERTADO O ALIMENTO (SUA POSIÇÃO ALTERNAVA ENTRE OS BAÇOS ESQUERDO E DIREITO); COMPARTIMENTOS 3 E 4 – NUNCA APRESENTAVAM NADA.....	13
2. AQUÁRIO DE TESTE UTILIZADO PARA TIME-PLACE LEARNING.....	15
3. AQUÁRIO DO TESTE DA TOCA (ADAPTADO DE BRYDGES et al, 2008).....	16
4. VARIAÇÃO DE ACERTO ENCONTRADA PARA OS GRUPOS POBRE E RICO DURANTE O PERÍODO DA MANHÃ E DA TARDE, DURANTE AS SEMANAS DE OBSERVAÇÃO. VALORES ACIMA DE 80 INDICAM QUE A MAIORIA DOS INDIVÍDUOS ENCONTRAVA-SE NO COMPARTIMENTO CORRETO.....	19
5. FREQUENCIA DE ACERTOS NO TESTE DA TOCA PARA OS GRUPOS POBRE E RICO. * INDICA DIFERENÇA ENTRE AS MÉDIAS.....	21

LISTA DE TABELAS

1. TEMPERATURA, CONCENTRAÇÃO DE NITRITO E DE AMÔNIA NOS AQUÁRIOS POBRE E RICO DURANTE O PERÍODO DE TRÊS MESES.....12
2. VALORES EXPRESSOS EM MÉDIA \pm DESVIO PADRÃO DO NÚMERO DE ERROS ATÉ O ACERTO, DO TEMPO ATÉ O ACERTO E DA FREQUÊNCIA DE ACERTOS PARA OS PEIXES DO AQUÁRIO POBRE E DO AQUÁRIO RICO, NO TESTE DO LABIRINTO.....18
3. MÉDIA \pm DESVIO PADRÃO DO NÚMERO DE ERROS ATÉ O ACERTO E DO TEMPO ATÉ O ACERTO PARA OS GRUPOS POBRE E RICO, NO TESTE DA TOCA.....20

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GERAL	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3 MATERIAIS E MÉTODOS	11
3.1 A ESPÉCIE	11
3.2 ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL	12
3.3 AVALIAÇÃO DA APRENDIZAGEM E MEMÓRIA	12
3.3.1 TESTE DO LABIRINTO	13
3.3.2 TESTE DE TIME-PLACE LEARNING	14
3.3.3 TESTE DA TOCA	15
4 RESULTADOS	18
4.1 TESTE DO LABIRINTO	18
4.2 TESTE DE TIME-PLACE LEARNING	18
4.3 TESTE DA TOCA	20
5 DISCUSSÃO	22
6 CONCLUSÕES	24
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

1. INTRODUÇÃO

Os peixes são utilizados em vários campos da atividade humana, como na pesca e na aquicultura, na investigação científica, e também como animais ornamentais (PEDRAZZANI et al, 2007). Mesmo havendo uma legislação reguladora destas atividades, o conhecimento acerca do bem-estar dos peixes é bastante reduzido (BRAITHWAITE & HUNTINGFORD, 2004). Segundo GALHARDO & OLIVEIRA (2006), embora existam muitos estudos ligados à saúde e mecanismos de estresse em peixes, somente recentemente estes fatores estão sendo incorporados no contexto de bem-estar animal. O autor acrescenta ainda que a senciência (capacidade do animal ter consciência de sensações e sentimentos) está relacionada ao bem-estar animal.

O conceito de bem-estar também contempla a capacidade que o indivíduo tem de reconhecer os estímulos internos e externos (cognição), envolvendo “todos os processos mentais que os animais utilizam para adquirir informações sobre seu ambiente, para armazená-las, evocá-las, e para a consideração dessas informações em suas decisões” (PEDRAZZANI et al, 2007).

A área científica do bem-estar animal tem como objetivo a caracterização da qualidade de vida dos animais e o desenvolvimento de estratégias que permita o seu incremento quando os animais se encontram sob a responsabilidade de humanos (GALHARDO & OLIVEIRA, 2007). De acordo com VASCONCELLOS et al (2002), o enriquecimento ambiental seria um método para melhora dos ambientes de cativeiro (mudanças na estrutura) e das técnicas de manejo, o que aumentaria as chances de escolha dos animais, propiciando comportamentos apropriados à espécie, reduzindo o estresse e aumentando assim os níveis de bem-estar animal. Inclui o ambiente físico do animal, interações sociais, dieta - o alimento, a variedade e o tipo de apresentação da comida, e interação com humanos - alimentação, limpeza, treinamentos, cuidados médicos, entre outros (MELLEN & MACPHEE, 2001).

Segundo NUNES et al (2003), o conceito de enriquecimento ambiental foi apresentado em 1925 pelo psicólogo Robert M. Yerkes, que admitia a importância do ambiente físico sobre o bem-estar dos animais de cativeiro, assim como os efeitos do manejo sobre os mesmo. Sua prática cresceu nos anos 70, a fim de incentivar comportamentos naturais e solucionar os problemas comportamentais surgidos nos zoológicos. Gradualmente foi sendo utilizado em laboratórios

interessados no bem-estar animal (OLSSON & DAHLBORN, 2002), e hoje o enriquecimento ambiental é influenciado principalmente pela Etologia, pela Psicologia e pela Zoologia.

MARTÍNEZ-CUÉ et al (2002) diz que o enriquecimento ambiental está associado à efeitos morfológicos, fisiológicos e comportamentais. VASCONCELLOS et al (2002) acredita que o emprego de enriquecimento ambiental possibilita que os animais de cativeiro apresentem um comportamento mais próximo do exibido em seu meio natural, além de proporcionar maiores possibilidades de exploração e interação com o ambiente, imprevisibilidade, companheirismo e privacidade.

Uma das maneiras de se avaliar se um animal encontra-se em boas condições é a observação de exibição de comportamentos típicos da espécie (como exploração, movimentação, brincadeiras e interação social). Dentre os comportamentos citados como “desejáveis”, o exploratório está intimamente relacionado com o recolhimento de informações do ambiente, pois possibilita a obtenção de informações a respeito da disponibilidade de recursos para o futuro, esconderijos, pontos de fuga, além de alimento (MENCH, 1998).

É de fundamental importância que a implementação do enriquecimento ambiental seja resultado de conhecimento e entendimento das necessidades e condições adequadas para cada espécie, bem como dos fundamentos científicos e da compreensão das práticas envolvidas. Devido a isso, o progresso da técnica de enriquecimento ambiental é lento, principalmente tratando-se de grupos aquáticos como peixes (WILLIAMS et al, 2009).

O impacto das pressões ambientais sobre o cérebro foi citado por Darwin em 1874, ao descrever que coelhos selvagens tinham cérebros de tamanho maior que os de coelhos domésticos (MOHAMMED et al, 2002). Grande parte dos estudos voltados ao enriquecimento ambiental envolve mamíferos (como ratos, coelhos, porcos e golfinhos), aves e alguns invertebrados (exemplo, polvo), pouco sendo estudado a respeito de peixes (BRYDGES & BRAITHWAITE, 2009 e WILLIAMS et al, 2009).

Donald O. Hebb, psicólogo canadense, foi o primeiro pesquisador a se interessar pelos impactos comportamentais do enriquecimento ambiental. Na década de 40 ele observou que animais criados em ambientes maiores e com mais variedade de objetos apresentavam habilidade superior de aprendizagem. Hoje sabemos que o enriquecimento ambiental aprimora a cognição através da

plasticidade neuronal. Ambientes enriquecidos são então associados a modificações morfológicas nas vias sensoriais primárias, nas áreas de associação e no hipocampo. Estudos recentes sugerem que peixes criados em laboratório possuem razão cérebro-corpo (proporção do peso do cérebro em relação ao peso corporal) menor que a de peixes mantidos em seus ambientes naturais. (NUNES et al, 2003).

Peixes são muitas vezes considerados os vertebrados “mais primitivos”, que apresentam menor telencéfalo e capacidade de aprendizagem limitada. Apesar de ainda serem poucos os estudos referentes à memória e aprendizagem desses animais, já se sabe que estas propriedades são similares entre os teleósteos e os vertebrados terrestres, e que o telencéfalo dos peixes é homólogo ao hipocampo de vertebrados superiores, estando envolvido na orientação espacial e na aprendizagem (SALAS et al, 2006). A vantagem da aprendizagem e da memória espacial está no fato de se cometer menos erros, gastar menos energia com processamento de informações, diminuir a vulnerabilidade de juvenis, e ter maior investimento parental (ODLING-SMEE & BRAITHWAITE, 2003b).

Como já foi exposto por BRYDGES & BRAITHWAITE (2009), a importância da avaliação de respostas comportamentais decorrentes do ambiente em que o indivíduo se encontra está principalmente no fato de que estudos recentes indicam que os peixes também possuem características cognitivas, e que o local de alojamento de peixes utilizados em laboratório pode comprometer os dados dos experimentos, visto que é possível a ocorrência de comportamentos anormais ou incomuns em seu habitat natural.

Dentre os estudos que visam avaliar os efeitos das variáveis ambientais sobre a aprendizagem, diversos métodos têm sido utilizados, como a privação materna, os condicionamentos operante e respondente, a manipulação neonatal, o isolamento social e o enriquecimento ambiental.

Partindo do princípio de que a memória pode ser definida como a capacidade de um organismo alterar seu comportamento em decorrência de experiências prévias (PAVÃO, 2008), e que essa capacidade resulta de modificações nos circuitos neurais em função da interação do indivíduo com o ambiente; e também que estudos recentes têm mostrado que o tipo de memória espacial utilizada pelos peixes está relacionado com o ambiente em que estes animais vivem (CHUNG, 2008), este estudo envolvendo enriquecimento ambiental está voltado para a

investigação dos efeitos de diferentes condições ambientais sobre a capacidade de aprendizagem de carpas húngaras.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Testar o papel do enriquecimento ambiental na memória associativa e memória espaço-temporal em carpa húngara.

2.2 Objetivo Específico

- Testar o desempenho dos animais mantidos em ambientes com e sem enriquecimento em teste de associação entre sinalizador/alimento, usando dois sinalizadores distintos: a) cascalho; b) cor.
- Verificar se ocorre diferença na aquisição de memória temporal entre os peixes mantidos no ambiente enriquecido e os do ambiente sem enriquecimento.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Estudos em Estresse Animal, no Departamento de Fisiologia localizado no setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná entre os meses de junho a outubro de 2009.

Foram adquiridas 70 carpas húngaras na Piscicultura Águas Verdes – Araucária/PR, no estágio alevino I, com tamanho médio de $4,53 \pm 0,29$ cm e peso médio de $1,60 \pm 0,32$ g. Os animais foram transportados em sacos plásticos durante 30 minutos até o laboratório. Imediatamente após a chegada, os peixes foram divididos em dois grupos de 35 indivíduos cada, sendo um grupo colocado num aquário “rico” e o outro num aquário “pobre”, onde permaneceram durante três meses.

3.1 A Espécie

A carpa húngara (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758), que é uma variedade melhorada da carpa comum, tem origem asiática e foi introduzida no Brasil em 1904 (ECHEVENGUÁ, 2006). É encontrada em águas rasas (de 1 a 5 metros de profundidade), com fracas correntes e vegetação abundante. Os animais dessa espécie tendem a destruir a vegetação e aumentar a turbidez da água, deteriorando o habitat para as espécies que necessitam de água limpa e vegetação para sobreviver. Sua alimentação natural é o zooplâncton (quando no estágio larval), pequenos moluscos, larvas de insetos, plantas e matéria orgânica encontrada em fundo de areia ou lama (site FISHBASE, acesso em 2 de abril de 2009).

Para este estudo foi escolhida a carpa húngara devido ao fato de ser uma espécie de fácil manuseio, por ajustar-se bem às condições de laboratório, por ser facilmente encontrada em pisciculturas da região de Curitiba/PR, e por já haver evidência de aprendizagem nesta espécie (CHASE, 2001).

3.2 Enriquecimento Ambiental

Ambos aquários montados eram do mesmo tamanho (50cm x 35cm x 30cm) e tinham o mesmo volume de água – 45 litros. O aquário com enriquecimento (“rico”) foi montado usando fundo com cascalho, vegetação natural (*Anubias nana* e *Microsorium pteropus*) e abrigos (pedaços de “tijolo baiano” e conexões de PVC), além do filtro para limpeza e aeração. Já o aquário sem enriquecimento (“pobre”), tinha apenas o filtro, não apresentando vegetação nem abrigos. A fim de minimizar o contato visual com o ambiente externo, os dois aquários foram revestidos com cartolina verde.

TABELA 1. TEMPERATURA, CONCENTRAÇÃO DE NITRITO E DE AMÔNIA NOS AQUÁRIOS POBRE E RICO DURANTE O PERÍODO DE TRÊS MESES.

Condição do aquário	Temperatura	Nitrato	Amônia
POBRE	24±1.25	0,56±1.01	3.72±1.80
RICO	24±1.25	0,19±0.17	2.10±1.19

em °C
** em ppm

Por ser uma espécie onívora, que aceita bem alimentos artificiais, os peixes do aquário rico receberam uma alimentação mais variada, incluindo ração comercial e pequenos vermes (bloodworm desidratado), enquanto os peixes do aquário pobre receberam apenas a ração comercial.

3.3 Avaliação da Aprendizagem e Memória

Ao final do período de três meses nos diferentes ambientes – pobre e rico – iniciaram-se os testes descritos abaixo, visando testar o papel do enriquecido ambiental na memória espacial, memória espaço-temporal e memória associativa dos peixes.

3.3.1 Teste do Labirinto

Neste experimento cinco indivíduos de cada tipo de aquário (Rico: comprimento de $4,60 \pm 0,22$ cm e peso igual $1,90 \pm 0,23$ g. Pobre: comprimento de $4,70 \pm 0,27$ cm e peso igual a $1,81 \pm 0,42$ g) foram colocados isoladamente em um aparato em forma de “+” (adaptação de um Labirinto em T), a fim de verificar se há diferença na aquisição de memória espacial (a associação de um sinalizador com a presença de comida) entre os peixes dos ambientes enriquecido e pobre.

O aparato possuía quatro braços de 13cm cada um, todos com compartimentos atrás de fundos falsos: cada peixe era posicionado no compartimento número 1 para o início do experimento; no compartimento número 2 a ração extrusada era depositada, e perto de sua entrada havia uma pilha de cascalho com a finalidade de agir como sinalizador (ponto de referência); os compartimentos número 3 e 4 não apresentavam nada. Em metade dos testes o compartimento 2 e o sinalizador estavam localizados no braço direito do aparato, e na outra metade estava localizado no braço esquerdo, a fim de evitar os efeitos da preferência por um dos lados sobre o resultado (Figura 1).

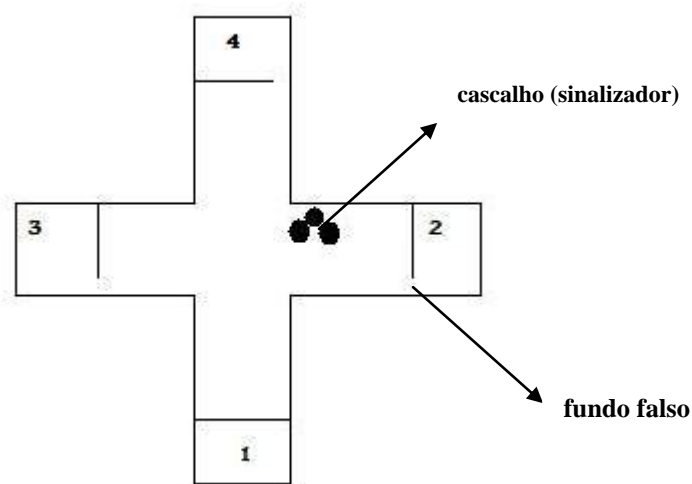


FIGURA 1. APARATO DO TESTE DO LABIRINTO (ADAPTADO DE ODLING-SMEE & BRAITHWAITE, 2003a). COMPARTIMENTO 1 – LOCAL ONDE O PEIXE ERA POSICIONADO PARA O INÍCIO DO TESTE; COMPARTIMENTO 2 – ONDE ERA OFERTADO O ALIMENTO (SUA POSIÇÃO ALTERNAVA ENTRE OS BAÇOS ESQUERDO E DIREITO); COMPARTIMENTOS 3 E 4 – NUNCA APRESENTAVAM NADA.

Para a realização deste teste todos os indivíduos foram previamente isolados, privados de alimento por 24 horas, e passaram por um pré-teste com a finalidade de familiarizar os animais com o aparato e o procedimento. O pré-teste consistia em deixar que os peixes nadassem livremente durante dez minutos pelo aparato.

No início do teste cada peixe foi solto no compartimento nº 1. A partir daí ele tinha acesso a todos os braços por dez minutos. O procedimento foi repetido durante quatro dias, utilizando os mesmos indivíduos.

Todos os testes foram gravados e os dados são referentes a quanto tempo cada indivíduo levou para entrar no compartimento 2, e quantas foram as tentativas erradas antes do encontro com o alimento. Então verificou-se se os peixes aprenderam a encontrar alimento no compartimento correto através do uso do cascalho como sinalizador, e se houve diferença entre os animais do aquário rico e os do aquário pobre. A análise estatística foi feita através de teste t.

3.3.2 Teste de Time-Place Learning

Como exposto por DELICIO & BARRETO (2008), a associação entre local e horário, e a disponibilidade de alimento, define as atividades diárias dos animais. Este evento é chamado “time-place learning”. Baseando-se nisso, esse teste visa verificar se ocorre diferença na aquisição de memória temporal entre os peixes do ambiente enriquecido e pobre.

Dez indivíduos de cada grupo (Rico: comprimento de $4,75 \pm 0,35$ cm e peso igual $1,87 \pm 0,38$ g. Pobre: comprimento de $4,75 \pm 0,26$ cm e peso igual a $2,17 \pm 0,55$ g) foram alocados em dois aquários de teste idênticos e foram alimentados sempre no mesmo horário e na mesma posição do aquário, durante um mês.

Os aquários de teste (tamanho: 50cm x 35cm x 30cm, volume: 45 litros) eram divididos em três partes iguais por duas divisórias, as quais permitiam a passagem dos indivíduos de um lado para o outro através de uma pequena abertura (Figura 2).

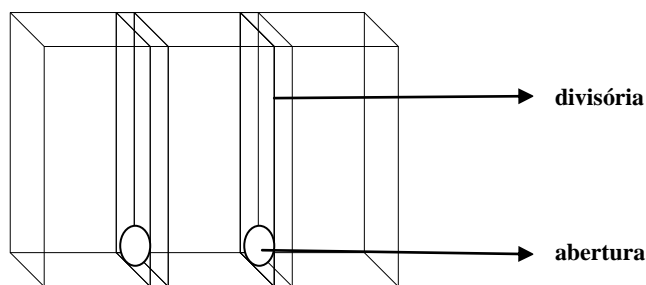


FIGURA 2. AQUÁRIO DE TESTE UTILIZADO PARA TIME-PLACE LEARNING.

Durante todo o período de teste, os dois grupos de peixes receberam ração comercial diariamente às 9:00h e às 15:00h, sendo que às 9:00h a ração era fornecida no compartimento esquerdo do aquário, e às 15:00h, no compartimento direito. A quantidade de ração diária, correspondente a 1% da massa dos peixes, foi dividida entre os dois horários, 50% em cada um.

A partir da 3ª semana de teste, nas 3ª e 5ª feiras os peixes não eram alimentados, e durante 30 minutos a distribuição deles nos compartimentos era registrada através de filmagem, sendo dividido em 15 minutos antes do horário habitual de alimentação e 15 minutos após o horário habitual de alimentação. Posteriormente os vídeos foram analisados e os dados foram coletados através da contagem do número de indivíduos presentes em cada compartimento, a cada 2 minutos. Então verificou-se se os peixes aprenderam a encontrar alimento no compartimento correto de acordo com o período do dia, e se houve diferença entre os animais do aquário rico e os do aquário pobre.

3.3.3 Teste da Toca

Este teste baseia-se nos experimentos realizados por SPIELER et al (1999) e BRYDGES et al (2008), e tem o objetivo de observar se ocorre a associação entre uma determinada cor e a oferta de alimento no local, e se essa associação ocorre diferentemente em peixes do aquários rico e peixes do aquário pobre.

Dez indivíduos de cada grupo (Rico: comprimento de $4,75 \pm 0,21$ cm e peso igual $2,55 \pm 0,25$ g. Pobre: comprimento de $4,87 \pm 0,19$ cm e peso igual a $2,33 \pm 0,27$ g)

foram testados individualmente e diariamente num aquário de teste que era composto por um compartimento vazio, o qual dava acesso a uma toca branca e uma toca preta (Figura 3).

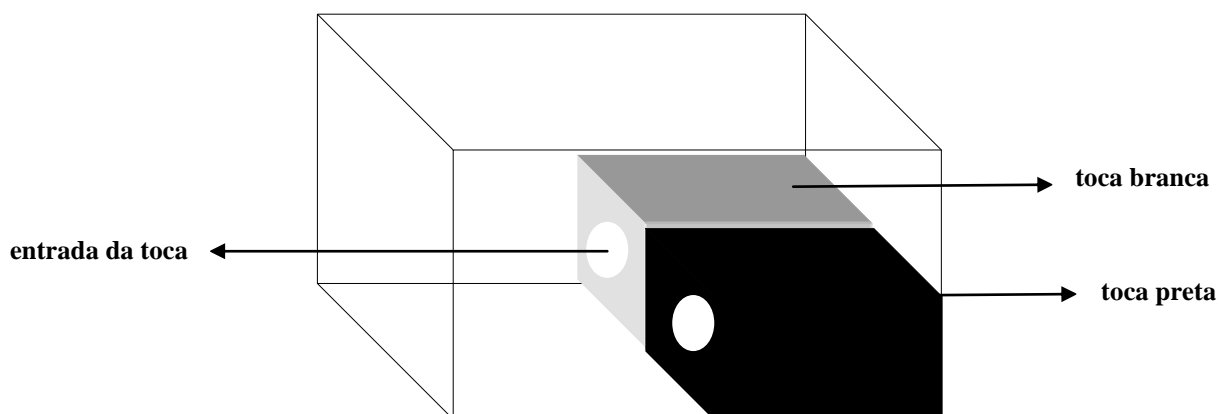


FIGURA 3. AQUÁRIO DO TESTE DA TOCA (ADAPTADO DE BRYDGES et al, 2008).

Um dia antes do início do teste os peixes foram isolados, privados de alimento por 24 horas, e passaram por um pré-teste para que se familiarizassem com o aquário de teste.

Cada peixe era deixado no centro do compartimento vazio para o início do teste. Em metade dos testes a toca preta encontrava-se à direita da branca, e na outra metade encontrava-se à esquerda. Nas duas primeiras semanas a ração extrusada foi depositada num canto interno da toca preta, de modo que o peixe não podia ver o alimento a partir do compartimento vazio; e nas duas últimas semanas de teste a ração estava localizada na toca branca. Tanto a alternância de lado quanto a alternância de cor visam minimizar efeitos causados por possíveis preferências dos peixes a algum desses fatores.

Os peixes testados permaneceram por dez minutos no aquário de teste, e foi registrado quanto tempo cada um levou para entrar na toca correta e encontrar o alimento, e também o número de tentativas erradas antes do acerto. Todos os animais foram testados uma vez por dia, durante quatro dias. Então verificou-se se os peixes aprenderam a encontrar alimento no compartimento correto através da

associação com a cor, e se houve diferença entre os animais do aquário rico e os do aquário pobre. A análise estatística foi feita através de teste t.

4. RESULTADOS

4.1 Teste do Labirinto

A frequência de acertos – o número de vezes em que os peixes entraram no compartimento 2, com alimento – não foi significativamente diferente entre os grupos do aquário pobre e os do aquário rico ($p = 0,75$). Da mesma forma, o número de erros – vezes em que os peixes entraram nos compartimentos 3 e 4 – antes do acerto não foi diferente entre os dois grupos ($p = 0,88$). Também não houve diferença significativa entre os grupos comparando-se o tempo que os animais levaram até o acerto, ou seja, para entrar no compartimento 2 ($p = 0,24$) (Tabela2).

TABELA 2. VALORES EXPRESSOS EM MÉDIA \pm DESVIO PADRÃO DO NÚMERO DE ERROS ATÉ O ACERTO, DO TEMPO ATÉ O ACERTO E DA FREQUÊNCIA DE ACERTOS PARA OS PEIXES DO AQUÁRIO POBRE E DO AQUÁRIO RICO, NO TESTE DO LABIRINTO.

Grupos experimentais	Número de erros até o acerto	Tempo até o acerto (min)	Frequência de acertos
POBRE	0.30 \pm 0.11	4.69 \pm 1.79	0.40 \pm 0.08
RICO	0.27 \pm 0.13	2.24 \pm 0.03	0.45 \pm 0.12

4.2 Teste de Time-Place Learning

Mesmo reconhecendo a importância da análise estatística, os resultados deste teste foram baseados em análise descritiva, para organizar, resumir e delinear os aspectos importantes de um conjunto de informações obtidas, e também porque a representação gráfica facilita a compreensão e interpretação dos resultados.

Como colocado no item 3.2.2, os dados foram coletados através da contagem do número de indivíduos em cada compartimento, a cada 2 minutos, gerando um total de 16 observações/compartimento/grupo/período do dia/semana. Para

desenvolver a análise destes dados e a montagem dos gráficos, foi somado o número de indivíduos presentes nas 16 observações somente do compartimento correto, ou seja, onde havia oferta de alimento.

Durante o período da manhã, a análise gráfica mostra que na 1ª semana de observação a maioria dos indivíduos do aquário pobre permaneceu mais tempo no compartimento correto, e na 2ª semana também, apesar de ter havido uma queda na variação de acertos. O mesmo ocorreu com os peixes do aquário rico, porém a diminuição dos acertos dos peixes do grupo pobre foi mais acentuada (Figura 4).

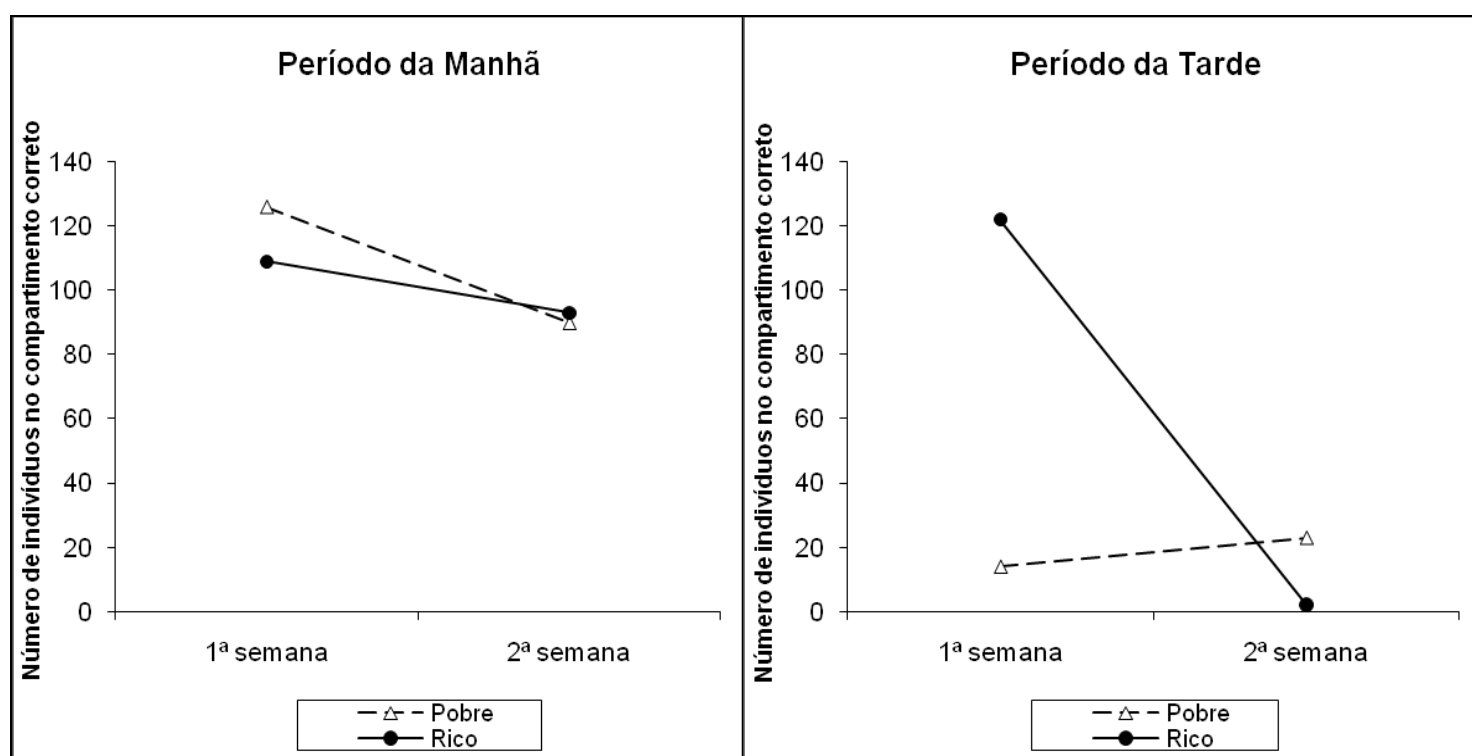


FIGURA 4. VARIAÇÃO DE ACERTO ENCONTRADA PARA OS GRUPOS POBRE E RICO DURANTE O PERÍODO DA MANHÃ E DA TARDE, DURANTE AS SEMANAS DE OBSERVAÇÃO. VALORES ACIMA DE 80 INDICAM QUE A MAIORIA DOS INDIVÍDUOS ENCONTRAVA-SE NO COMPARTIMENTO CORRETO.

No período da tarde a maioria dos peixes do aquário pobre permaneceu mais tempo nos compartimentos errados, ou seja, onde o alimento não estava sendo ofertado às 15 horas, tanto na 1ª semana quanto na 2ª. Porém na 2ª semana a variação de acertos tende a se tornar positiva, sugerindo haver uma melhora na

resposta de acertos. Os indivíduos do aquário rico se comportaram de forma completamente diferente; enquanto na 1ª semana a maioria estava no compartimento correto, na 2ª semana praticamente só havia peixes nos compartimentos errados, provocando um grande aumento no número de erros.

4.3 Teste da Toca

Neste teste o número de erros cometidos antes do acerto – número de vezes que os peixes entraram na toca que não apresentava alimento, assim como o tempo gasto até o primeiro acerto – tempo que levou para que cada peixe entrasse na toca com alimento – não apresentaram diferença significativa entre os grupos pobre e rico (número de erros até o acerto: $p = 1,000$. Tempo até o acerto: $p = 0,8682$) (Tabela 3).

TABELA 3. MÉDIA \pm DESVIO PADRÃO DO NÚMERO DE ERROS ATÉ O ACERTO E DO TEMPO ATÉ O ACERTO PARA OS GRUPOS POBRE E RICO, NO TESTE DA TOCA.

Grupos experimentais	Número de erros até o acerto	Tempo até o acerto (min)
POBRE	0.20 \pm 0.08	3.29 \pm 0.44
RICO	0.20 \pm 0.10	3.33 \pm 0.66

Porém, a frequência de acertos foi significativamente diferente entre os grupos ($p < 0.0001$). Peixes mantidos em ambiente enriquecido obtiveram mais acertos do que os peixes mantidos em ambiente pobre (Figura 5).

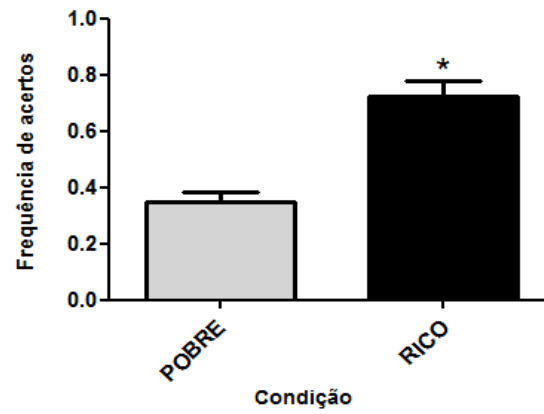


FIGURA 5. FREQUENCIA DE ACERTOS NO TESTE DA TOCA PARA OS GRUPOS POBRE E RICO. * INDICA DIFERENÇA ENTRE AS MÉDIAS.

5. DISCUSSÃO

No ambiente aquático os peixes estão expostos a vários estímulos, a partir dos quais eles têm a capacidade de obter informações a respeito de sua localização espacial (ODLING-SMEE & BRAITHWAITE, 2003b). Visto que tanto os indivíduos do aquário rico quanto os do pobre foram capazes de encontrar a ração nos testes de associação com sinalizadores, os aparatos se mostraram adequados para os testes que se propôs, sugerindo que os sinalizadores podem auxiliar no processo de busca de sítios alimentares em carpa. O mesmo ocorre em salmões (*Salmo salar*), aimorés (*Bathygobius soporator*), peixes dourados (*Carassius auratus*) e esgana-gatos (*Gasterosteus aculeatus*), por exemplo (BRAITHWAITE et al, 1996). Porém, enquanto animais dos ambientes com e sem enriquecimento apresentaram o mesmo desempenho quando foi usado o cascalho como sinalizador (Teste do Labirinto), a utilização das cores branca e preta no Teste da Toca promoveu uma diferença nas respostas dos grupos. A maior frequência de acertos encontrada nos peixes do ambiente enriquecido, neste teste, sugere maior desenvolvimento da memória associativa nesse grupo.

Numa análise comparativa, observa-se que os valores médios obtidos para o número de erros até o acerto e para o tempo gasto até o acerto foi semelhante entre os animais de ambos os testes. A diferença está na frequência de acertos, que para o teste de associação com cor foi maior comparativamente ao teste de associação com o cascalho. Essa diferença pode ter ocorrido pelo artefato do aparato de teste ter sido diferente (labirinto e toca), e não pela diferença no item sinalizador (cascalho ou cor da toca). Assim, os dados obtidos nos permitem inferir que a cor, associada ao aparato utilizado da toca, se mostrou eficiente para o teste de memória associativa em carpa, mas estudos mais cuidadosos são necessários para se inferir sobre a utilização do cascalho como sinalizador por esses animais. De qualquer forma, é importante salientar que nestes dois testes a preferência por lado esquerdo ou direito do aquário, ou ainda por outro sinalizador no ambiente ao redor dos aquários foi controlada, alternando-se a posição do cascalho e das tocas preta/branca entre lados direito e esquerdo do aquário de teste.

No Teste do Labirinto, apesar de o tempo até o acerto não apresentar diferenças estatísticas entre os grupos, é possível afirmar que mesmo assim há indícios de aquisição de memória espacial nos peixes do aquário rico, pois a

diferença numérica é grande. Neste caso é preciso analisar o dado independente da ótica da ciência exata, pois é importante que este resultado não seja invalidado.

Uma análise descritiva dos dados obtidos no teste de memória temporal não nos permite considerar a possibilidade de aprendizagem nem entre os grupos, nem entre momentos (1ª e 2ª semana de observação). Pelo registro feito no período da manhã, o número de animais presentes no compartimento correto foi semelhante entre os grupos pobre e rico para as duas semanas. Para o período da tarde, o grupo proveniente do ambiente enriquecido apresentou um número bem maior de animais no compartimento correto comparativamente aos do ambiente pobre, mas esse padrão não se manteve na 2ª semana. Estudos semelhantes feitos com acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) conseguiram demonstrar a ocorrência de time-place learning nesta espécie, enquanto estudos realizados com acará-topete (*Geophagus brasiliensis*), acará-zebra (*Cichlasoma nigrofasciatum*) e tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) mostram que essas espécies não foram capazes de apresentar esse tipo de aprendizagem (DELICIO & BARRETO, 2008). Os resultados obtidos no presente teste podem ter se dado em decorrência de outros fatores, não associados à capacidade de aquisição de memória temporal; pode estar envolvida a questão da preferência por um horário de alimentação, hábitos alimentares, a motivação, e até mesmo o acaso.

6. CONCLUSÕES

Como o Teste de Time-Place Learning não evidenciou aprendizagem, neste caso nada pode ser inferido quanto aos efeitos do enriquecimento ambiental sobre a capacidade de memória temporal da espécie estudada.

Já os dados obtidos no Teste da Toca e no Teste do Labirinto mostram que houve realmente uma vantagem na capacidade de aquisição de memória espacial dos peixes mantidos em ambiente enriquecido, em relação aos mantidos no aquário sem enriquecimento.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAITHWAITE, V. A.; ARMSTRONG, J. D.; McADAM, H. M.; HUNTINGFORD, F. A. Can juvenile Atlantic salmon use multiple cue systems in spatial learning? **Animal Behaviour**, v. 51, n. 6, p. 1409-1415, 1996.

BRAITHWAITE, V.A.; HUNTINGFORD, F.A. Fish and welfare: do fish have the capacity for pain perception and suffering? **Animal Welfare**, v. 13 suppl, p. 87-92, 2004.

BRYDGES, N.M.; HEATHCOTE, R. J. P.; BRAITHWAITE, V.A. Habitat stability and predation pressure influence learning and memory in populations of three-spined sticklebacks. **Animal Behaviour**, v. 75, p. 935–942, 2008.

BRYDGES, N.M.; BRAITHWAITE, V.A. Does environmental enrichment affect the behavior of fish commonly used in laboratory work? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 118, p. 137-143, 2009.

CHASE, A. R.; Music discriminations by carp. **Animal Learning and Behavior**, v. 29, n. 4, p. 336-353, 2001.

CHUNG, S. Appropriate maze methodology to study learning in fish. **Journal of Undergraduate Life Sciences**, v. 2, n. 1, p. 52-55, 2008.

DELICIO, H.C.; BARRETO, R. E . Time-place learning in food restricted Nile tilapia. **Behavioural Processes**, v. 77, p. 126-130, 2008.

ECHEVENGUÁ, M. Avaliação da qualidade da carne da carpa húngara *Cyprinus carpio* de diferentes sistemas de cultivo na Região Sul do Brasil. Rio Grande: FURG, 2006, 56p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Fundação Universidade Federal do Rio Grande, 2006.

FISHBASE. Disponível em:

<http://www.fishbase.org/Summary/speciesSummary.php?ID=1450&genusname=Cyprinus&speciesname=carpio+carpio>. Acesso em: 2 de abr. 2009.

GALHARDO, L.; OLIVEIRA, R. Bem-estar Animal: um conceito legítimo para peixes? **Revista de Etologia**, v. 8, n. 1, p. 51-61, 2006.

GALHARDO, L.; OLIVEIRA, R. Sobre a aplicação do conceito de bem-estar a peixes teleósteos e implicações para a piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, *suplemento especial*, p. 77-86, 2007.

MARTÍNEZ-CUÉ, C.; BAAMONDE, C.; LUMBRERAS, M.; PAZ, J.; DAVISSON, M. T.; SCHMIDT, C.; DIERSSEN, M.; FLÓREZ, J. Differential effects of environmental enrichment on behavior and learning of male and female Ts65Dn mice, a model for Down syndrome. **Behavioural Brain Research**, v. 134, p. 185-200, 2002.

MELLEN, J; MACPHEE, M. S. Philosophy of environmental enrichment: past, present, and future. **Zoo Biology**, v. 20, n. 3, p. 211-226, 2001

MENCH, J. A. Environmental enrichment and the importance of exploratory behavior. In: SHEPHERDSON, D. J., MELLEN, J. D. & HUTCHINS, M. (Orgs.). **Second Nature: environmental enrichment for captive animals**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1998. p. 30-46.

MOHAMMED, A.H.; ZHU, S.; DARMOPIL, S.; et al. Environmental enrichment and the brain. In: HOFMAN, M.; BOER, G.; HOTMAAT, A.; et al, editors. **Progress in brain research**, 2002. p. 109-33.

NUNES, C.R.O.; BUSSAB, V.S.R.; GUERRA, R.F. Enriquecimento ambiental, privação social e manipulação neonatal. **Revista de Ciências Humanas**, v. 34, p. 365-394, 2003.

ODLING-SMEE, L.; BRAITHWAITE, V.A. The influence of habitat stability on landmark use during spatial learning in the threespined stickleback. **Animal Behaviour**, v. 65, p. 701-707, 2003a.

ODLING-SMEE, L.; BRAITHWAITE, V.A. The role of learning in fish orientation. **Fish and Fisheries**, v. 4, p. 235-246, 2003b.

OLSSON, I. A. S.; DAHLBORN, K. Improving housing conditions for laboratory mice: a review of 'environmental enrichment'. **Laboratory Animals**, v. 36, n. 3, p. 243-270, 2002.

PAVÃO, R. Aprendizagem e Memória. **Revista da Biologia**, v. 1, p. 16-20, 2008.

PEDRAZZANI, A. S.; FERNANDES-DE-CASTILHO, M.; CARNEIRO, P. C. F.; MOLENTI, C. F. M. Bem-estar de peixes e a questão da sentiência. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 3, p. 60-70, 2007.

SALAS, C.; BROGLIO, C.; DURÁN, E.; GÓMEZ, A.; OCAÑA, F. M.; JIMÉNEZ-MOYA, F.; RODRÍGUEZ, F. Neuropsychology of learning and memory in teleost fish. **Zebrafish**, v. 3, n. 2, p. 157-171, 2006.

VASCONCELLOS, A. S.; ADES, C.; PIZZUTTO, C. S. Enriquecimento ambiental para o lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*). **Anais do XX Encontro Anual de Etologia**, p. 305-305, Natal, 2002.

WILLIAMS, T. D.; READMAN, G. D.; OWEN, S. F. Key issues concerning environmental enrichment for laboratory-held fish species. **Laboratory Animals**, v. 43, n. 2, p. 107-120, 2008.